

Akut Myokard Infarktüsünde Eritrosit Arjinaz Aktivitesinin Önemi

[The Importance of Erythrocyte Arginase Activity In Acute Myocardial Infarction]

¹Selma Süer Gökmen,

¹Reyhan Yıldız,

²Fatih Özçelik,

²Zihni Aktaş,

¹Şendoğan Gülen

Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi, ¹Biyokimya ve
²Kardiyojloji Anabilim Dalları, 22030, Edirne

Yazışma Adresi

[Correspondence Address]

Prof.Dr.Selma SÜER GÖKMEN (Ph.D.),

Trakya Üniversitesi Tıp Fakültesi Biyokimya

Anabilim Dalı, 22030, Edirne

Tel: 0-284-2357642/1618

Fax: 0-284-2351564

E-mail: selmasuer@hotmail.com

ÖZET

Arjinaz (L-Arjinin amidinohidrolaz; EC 3.5.3.1) memelilerin karaciğerinde amonyağın detoksifikasyonundan sorumlu üre döngüsünün son enzimidir. Karaciğer dışı memeli dokularında arjinazın hücrelere glutamik asid, prolin ve poliaminlerin biyosentezinde önemli bir metabolit olan ornitini sağladığı bilinir. Bu çalışmanın amacı; akut myokard infarktüsülü hastalarda infarktüstün 24 saat, 48 saat ve 10 gün sonra eritrosit arjinaz aktivitesinde bir değişim olup olmadığını myokard hücre hasarının belirteçleri olan serum aspartat aminotransferaz (AST), laktat dehidrojenaz (LDH) ve kreatin kinaz-MB (CK-MB) aktiviteleri ile birlikte incelemektir. Çalışmaya akut myokard infarktüsü teşhisi konulmuş 49 hasta ve 35 sağlıklı birey dahil edildi. Arjinaz aktivitesi Geyer ve Dabich metodu kullanılarak, AST, LDH ve CK-MB aktiviteleri ise otoanalizörde ticari kit ile ölçüldü. Bulgularımız, akut myokard infarktüsülü hastaların hem eritrosit arjinaz hem de kardiyak belirteç enzim aktivitelerinin infarktüsün ilk gününde yükseldiğini, ikinci günde kontrol grubuna göre yine yüksek olmakla birlikte ilk güne göre bir düşme gösterdiğini ve 10.günde ise LDH dışında tümünün kontrol seviyelerine indiğini göstermiştir. İnfarktüstün 24 saat, 48 saat ve 10 gün sonra eritrosit arjinaz aktivitesindeki değişimin izlenmesinin myokard infarktüsü tanısı koymada faydalı olabileceğini düşünüyoruz.

Anahtar Kelimeler: Arjinaz, aspartat aminotransferaz, laktat dehidrojenaz, kreatin kinaz-MB, akut myokard infarktüsü

ABSTRACT

Arginase (L-Arginine amidinohydrolase; EC 3.5.3.1), the final enzyme in the urea cycle, is responsible for the detoxification of ammonia in the liver of the mammalian. In extrahepatic mammalian tissues, arginase is believed to supply the cell with ornithine, a crucial metabolite in biosynthesis of glutamic acid, proline and polyamines. The purpose of the present study is to investigate whether erythrocyte arginase activity is changed in patients with acute myocardial infarction at 24 hour, 48 hour and on day 10 post-infarction together with aspartate aminotransferase (AST), lactate dehydrogenase (LDH) and creatine kinase-MB (CK-MB), the markers of myocardial cell damage. In this study, 49 subjects with acute myocardial infarction and 35 healthy volunteers were included. Erythrocyte arginase activity determination was carried out by the methods of Geyer and Dabich. Serum AST, LDH and CK-MB activities were measured with an automatic biochemistry analyzer by commercial kits. Our results showed that both arginase and cardiac marker enzyme activities are elevated at 24 hour post-infarction, and then they are decreased at 48 hour post-infarction as compared to those at the first day while they are still elevated when compared with control group and except LDH, all enzyme activities are returned to control levels on day 10 post-infarction in patients with acute myocardial infarction. We think that the observation of the changes in erythrocyte arginase activity at 24 hour, 48 hour and on day 10 post-infarction may be useful for diagnosis of acute myocardial infarction.

Key Words: Arginase, aspartate aminotransferase, lactate dehydrogenase, creatine kinase-MB, acute myocardial infarction

GİRİŞ

Arjinaz (L-arjinin amidinohidrolaz; EC 3.5.3.1) arjininin ornitin ve üreye hidrolizini katalizleyen ve yapısında iki adet mangan içeren bir metaloenzimdir (1,2). Enzim, başlıca üre siklusunun en aktif olduğu karaciğerde bulunmakla birlikte, böbrek, beyin, barsak, meme bezi, eritrosit, deri ve makrofajlarda da aktivitesine rastlanır (3–6). Karaciğer dışı memeli dokularında arjinazın hücelere glutamik asit, prolin ve poliaminlerin biyosentezinde önemli bir metabolit olan ornitini sağladığı bilinir (7). Diğer yandan L-arjinin, nitrik oksit sentezi için tek substrattır ve immün yanıt esnasında T lenfositlerinin proliferasyonu ve fonksiyonu için gereklidir (8,9).

Memelilerde arjinazın iki izoformu saptanmıştır (10,11). Arjinaz AI başlıca hepatositlerde, eritrositlerde ve mononükleer lökositlerde bulunan sitozolik bir enzimdir (12–14). Arjinaz AII ise karaciğer dışı dokularda bulunan mitokondriyel bir enzimdir (10).

Hücre büyümesi için gerekli olan ve transkripsiyon, translasyon ve protein sentezinin başlamasını kolaylaştıran poliaminlerin (7) kalpte önemli bir role sahip olduğu ileri sürülmüştür (15,16). Bir β -adrenerjik agonist olan ve yüksek dozlarda akut myokardial nekrozu uyaran izoproterenolün (17,18) kalpteki ornitin dekarboksilaz aktivitesinde ve poliamin düzeylerinde bir artış meydana getirdiği ve bu nedenle poliaminlerin sıçanlarda izoproterenol ile uyarılmış kardiyak hasara eşlik eden intraselüler faktörlerden biri olabileceği bildirilmiştir (19). Başka bir çalışmada ise poliaminlerin sıçan kalbinde kalsiyumun hücre içine kontrolsüz girişi ve hücre hasarı ile ilişkili olabileceği ileri sürülmüştür (20). Myokard infarktüsülü hastaların serum arjinaz aktivitesinde de bir artış olduğu ve bu artışın kalp kasındaki nekrotik bölgeden kaynaklanmış olabileceği bildirilmiştir (21). Ancak literatürde akut myokard infarktüsülü hastaların eritrosit arjinaz aktivitesini inceleyen bir çalışmaya rastlayamadık.

Myokard infarktüsünde kan akımının kesilmesi irreversibl hücre ve hücre membranının hasarına yol açar. Hücre membranının hasarı hücre içeriklerinin dolaşıma salınması ile sonuçlanır. Myokard dokusunda bulunan ve hücre hasarına bağlı olarak kan dolaşımına salınan klinik olarak önemli enzimler; kreatin kinaz, laktat dehidrojenaz, aspartat aminotransferaz ve aldolazdır (22).

Bu çalışmanın amacı; akut myokard infarktüsülü hastalarda infarktüsteden 24 saat, 48 saat ve 10 gün sonra eritrosit arjinaz aktivitesinde bir değişim olup olmadığını myokard hücre hasarının belirteçleri olan serum aspartat aminotransferaz (AST), laktat dehidrojenaz (LDH) ve kreatin kinaz-MB (CK-MB) aktiviteleri ile birlikte incelemek ve myokard infarktüsünün teşhisinde eritrosit arjinaz ölçümünün rolünü irdelemektir.

MATERYAL VE METOD

Çalışmaya fakültemizin Kardiyoloji Anabilim Dalı tarafından akut myokard infarktüsü teşhisi konulmuş

yaş ortalaması 56.04 ± 10.04 olan 17'si kadın 49 hasta dahil edildi. Myokard infarktüsünün teşhisi, klinik semptomlar, karakteristik EKG değişiklikleri ve yükselmiş enzim aktiviteleri temel alınarak yapıldı. Myokard infarktüsünün teşhisinden sonra tüm hastalara streptokinaz veya doku plazminojen aktivatörü ile trombolitik tedavi uygulandı. Hasta grubu için diyabet, böbrek yetmezliği, yakın zamanda geçirilmiş infeksiyonlar, neoplastik hastalıklar, supraventriküler taşiaritmiler ve daha önce geçirilmiş myokard infarktüsü dışlama kriteri olarak kabul edildi. Çalışmaya ayrıca yakın zamanda infeksiyon ve operasyon geçirmemiş ve ilaç almayan, yaş ortalaması 52.03 ± 8.91 olan, 15'i kadın 35 sağlıklı birey dahil edildi. İnfarktüsteden 24 saat, 48 saat ve 10 gün sonra hastalardan elde edilen heparinize kan örnekleri $11.000 \text{ rpm'de } +4^\circ\text{C'ta}$ 10 dakika santrifüjlenerek plazması uzaklaştırıldı. Hücreler, 2 hacim %0.9'luk NaCl ile iki kez yıkandı. Süpernatant uzaklaştırılarak, eritrositler 2.5 mM MnCl_2 ile orijinal hacime tamamlandı. Elde edilen hemolizat $+4^\circ\text{C'ta}$ saklanarak 3 gün içinde kullanıldı. Arjinaz aktivitesi Geyer ve Dabich metodu kullanılarak tayin edildi (23). Bunun için $0.1 \text{ ml hemolizata } 9.9 \text{ ml } 2.5 \text{ mM MnCl}_2$ eklenerek 55°C'ta 10 dk preinkübasyona bırakıldı. Deney ve sıfır zaman (zero time blank) tüplerine $0.4 \text{ ml } 50 \text{ mM arjinin çözeltisi ve } 0,4 \text{ ml } 100\text{mM karbonat tamponu (pH } 9.7)$ konuldu. Kör (blank) tüpüne $1 \text{ ml distile su, standard tüpüne } 0,1 \mu\text{mol/ml'lik üre standardından } 1 \text{ ml konuldu. Sıfır zaman tüpüne ise } 3 \text{ ml asit karışımı (}\%56.7\text{'lik H}_3\text{PO}_4 \text{ içinde } 0.12 \text{ M FeCl}_3 \text{ ve } \%20\text{'lik (V/V) H}_2\text{SO}_4 \text{ karışımı) konulduktan sonra } 0.2 \text{ ml enzim kaynağından ilave edildi ve vortekslendi. Standart ve kör tüplerine de } 3 \text{ ml asit karışımı konuldu. Tüpler ve enzim kaynağı } 37^\circ\text{C'lik metabolik su banyosunda } 3 \text{ dk bekletilerek aynı ısıya gelmeleri sağlandı. Ardından deney tüplerine } 0.2 \text{ ml enzim kaynağından konuldu ve vortekslendi ve sallantılı metabolik su banyosunda } 37^\circ\text{C'de } 15 \text{ dk inkübasyona bırakıldı. Bu sürenin sonunda deney tüplerine } 3 \text{ ml asit karışımı ilave edilerek reaksiyon durduruldu. Tüm tüplere } 2 \text{ ml renk ayırıcı (} 0.0036 \text{ M tiyosemikarbazid + } 0.0617 \text{ M diasetilmonoksim) ilave edildi ve vortekslendi. Tüplerin ağızları kapatılarak } 10 \text{ dk kaynar su banyosunda tutuldu ve soğutularak } 520 \text{ nm dalga boyunda köre karşı absorbanları okundu.}$

Bir arjinaz ünitesi, 37°C'ta 1 dakikada $1 \mu\text{mol üre serbestleştiren enzim miktarı olarak tanımlandı ve hemoglobine oranlanarak verildi. AST, LDH ve CK-MB aktiviteleri ise otoanalizörde (Synchron LX 20, Beckman Coulter, USA) ticari kit (Beckman Coulter, California, USA) ile enzimatik olarak ölçüldü. Hasta grubu ile kontrol grubunun karşılaştırılmasında Mann-Whitney U testi, hasta grubunun kendi içindeki karşılaştırmalarda Friedman varyans analizi ve Wilcoxon iki örnek testi, korelasyon analizleri için Spearman korelasyon testi kullanıldı.}$

BULGULAR

Myokard infarktüsli hastaların ve kontrol grubunun eritrosit arjinaz değerleri Tablo 1'de görülmektedir. Hasta grubunun infarktüstten 24 saat ($p<0.001$) ve 48 saat ($p<0.05$) sonraki eritrosit arjinaz aktiviteleri kontrol grubuna göre istatistiksel olarak daha yüksek bulundu. Bununla birlikte myokard infarktüsli hastaların infarktüstten 10 gün sonraki arjinaz aktivitesi kontrol grubundan farksızdı ($p>0.05$). Myokard infarktüsli hastaların infarktüstten 24 saat ($p<0.001$) ve 48 saat ($p<0.01$) sonraki arjinaz aktiviteleri de infarktüstten 10 gün sonraki arjinaz aktivitesine göre daha yüksek bulundu. Ayrıca infarktüstten 24 saat sonraki arjinaz aktivitesi de infarktüstten 48 saat sonraki arjinaz aktivitesinden anlamlı olarak daha yüksekti ($p<0.01$) (Şekil 1).

Myokard infarktüsli hastaların infarktüstten 24 saat ve 48 saat sonraki AST, LDH ve CK-MB aktiviteleri kontrol grubuna göre istatistiksel olarak daha yüksekti (tümü için $p<0.001$) (Tablo 2). Hasta grubunun infarktüstten 10 gün sonraki LDH aktivitesi de kontrol grubundan daha yüksekti ($p<0.001$). İnfarktüstten 24 saat sonraki ve 48 saat sonraki kardiyak belirteç enzim aktiviteleri 10. günlük enzim aktiviteleri ile karşılaştırıldığında daha yüksek bulundu (tümü için $p<0.001$). Ayrıca, infarktüstten 24 saat sonraki AST ($p<0.001$), LDH ($p<0.05$) ve CK-MB ($p<0.001$) aktiviteleri de infarktüstten 48 saat sonraki enzim aktivitelerine göre anlamlı olarak daha yüksek bulundu (Şekil 2, 3 ve 4). Akut myokard infarktüsli hastaların eritrosit arjinaz aktivitesinde gözlenen değişim infarktüs sonrası dolaşıma salıverilen kardiyak belirteç enzimlerinin aktivitesinde gözlenen değişime paralellik gösterdi (Şekil 5).

Tablo 1: Myokard infarktüsli hastalarda infarktüstten 24 saat, 48 saat ve 10 gün sonraki eritrosit arjinaz aktivitelerinin kontrol grubu ile karşılaştırılması.

Arjinaz (U/g Hb)	min-maks	ortalama±SD	Median
Myokard İnfarktüsü (n=49)			
24. saat	42.58-122.39	68.61±21.55*	62.45
48. saat	30.75-100.76	60.29±17.59**	59.36
10.gün	13.88-100.68	51.63±20.53	49.53
Kontrol (n=35)	28.88-71.35	51.59±10.78	50.99

* $p<0.001$, $z=3.684$

** $p<0.05$, $z=2.246$

Tablo 2: Myokard infarktüsli hastalarda infarktüstten 24 saat, 48 saat ve 10 gün sonraki serum aspartat aminotransferaz (AST), laktat dehidrojenaz (LDH) ve kreatin kinaz-MB (CK-M) aktivitelerinin kontrol grubu ile karşılaştırılması.

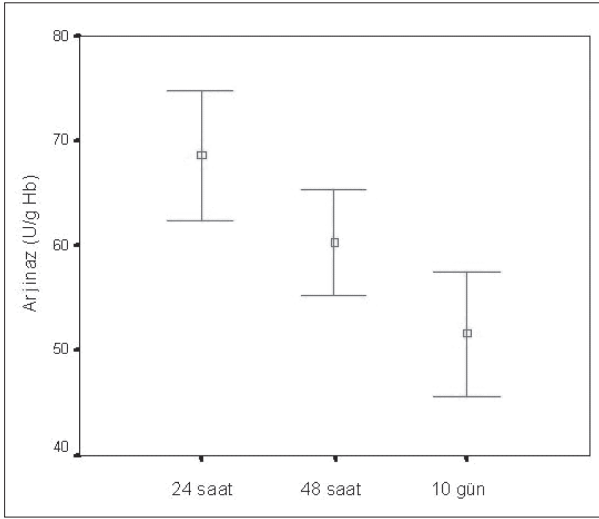
	AST (U/L)	LHD (U/L)	CK-MB (U/L)
Myokard İnfarktüsü (n=49)			
24. saat	219.54±99.28* (n=49)	918.65±553.09* (n=48)	136.16±97.13* (n=49)
48. saat	128.80±76.95* (n=49)	843.36±512.35* (n=49)	40.21±25.67* (n=46)
10.gün	27.00±7.66 (n=42)	308.27±116.53* (n=40)	12.66±7.35 (n=41)
Kontrol	23.63±5.96 (n=35)	155.24±31.36 (n=35)	14.71±9.76 (n=435)

* $p<0.001$

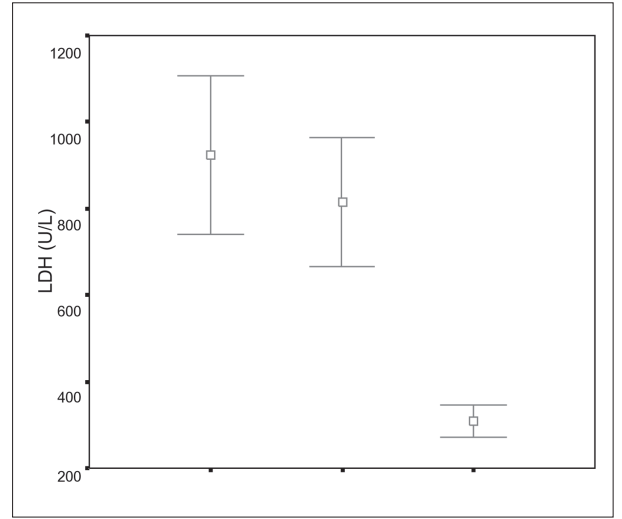
24 saat: AST için $z=7.764$, LDH için $z=7.762$, CK-MB için $z=7.411$

48 saat: AST için $z=7.691$, LDH için $z=7.731$, CK-MB için $z=5.171$

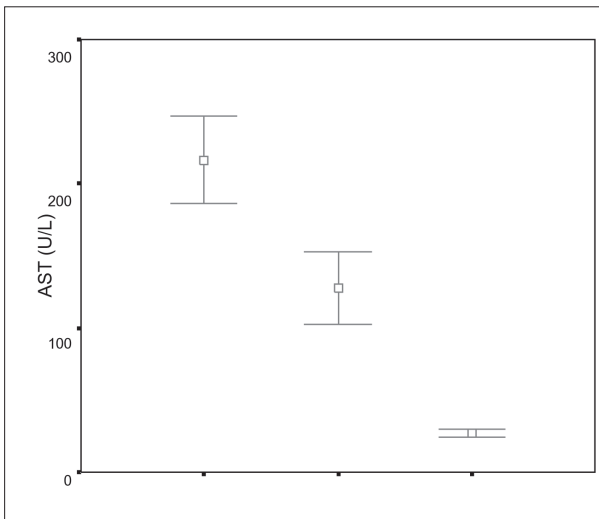
10.gün: $z=6.612$



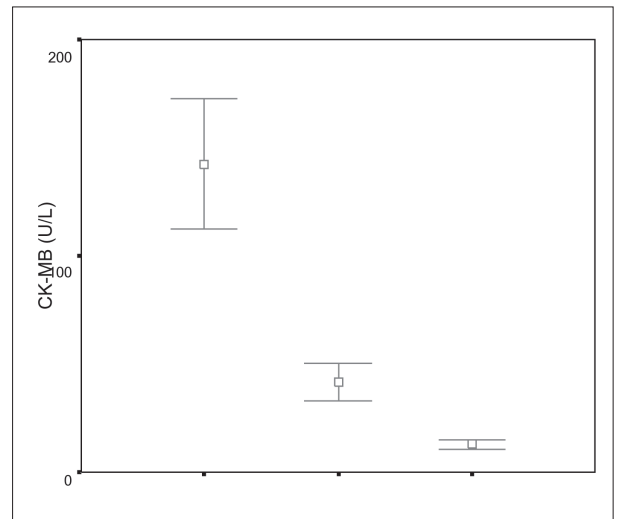
Şekil 1. Myokard infarktüsli hastalarda infarktüstten 24 saat, 48 saat ve 10 gün sonraki eritrosit arjinaz aktivitesinin karşılaştırılması. (24 saat ile 10.gün arasında $z=4.511$, $p<0.001$, 48 saat ile 10.gün arasında $z=2.985$, $p<0.01$, 24 saat ile 48 saat arasında $z=2.910$, $p<0.01$).



Şekil 3. Myokard infarktüsli hastalarda infarktüstten 24 saat, 48 saat ve 10 gün sonraki serum laktat dehidrogenaz (LDH) aktivitesinin karşılaştırılması. (24 saat ile 10.gün arasında $z=5.511$, $p<0.001$, 48 saat ile 10.gün arasında $z=5.511$, $p<0.001$, 24 saat ile 48 saat arasında $z=2.015$, $p<0.05$).



Şekil 2. Myokard infarktüsli hastalarda infarktüstten 24 saat, 48 saat ve 10 gün sonraki serum aspartat aminotransferaz (AST) aktivitesinin karşılaştırılması. (24 saat ile 10.gün arasında $z=5.633$, $p<0.001$, 48 saat ile 10.gün arasında $z=5.583$, $p<0.001$, 24 saat ile 48 saat arasında $z=4.954$, $p<0.001$).

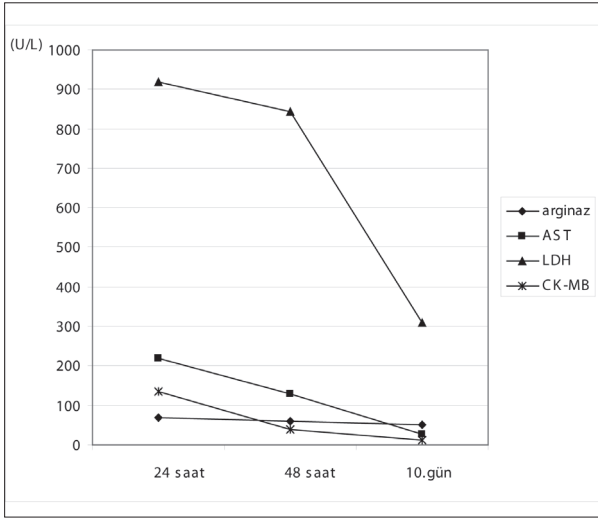


Şekil 4. Myokard infarktüsli hastalarda infarktüstten 24 saat, 48 saat ve 10 gün sonraki serum kreatin kinaz-MB (CK-MB) aktivitesinin karşılaştırılması. (24 saat ile 10.gün arasında $z=5.540$, $p<0.001$, 48 saat ile 10.gün arasında $z=5.169$, $p<0.001$, 24 saat ile 48 saat arasında $z=5.796$, $p<0.001$).

İnfarktüstten 24 saat sonraki aktivite artışını arjinaz için 1.33 kat, AST için 9.29 kat, LDH için 5.92 kat ve CK-MB için 9.25 kat olarak bulduk. İnfarktüstten 48 saat sonraki artış ise, arjinaz için 1.17 kat, AST için 5.45 kat, LDH için 5.43 kat ve CK-MB için 2.73 kat olarak bulundu (Tablo 3).

Çalışmada kontrol grubunun ve hasta grubunun infarktüstten 24 saat ve 48 saat sonraki arjinaz aktivitesi ile diğer kardiyak belirteç enzim aktiviteleri arasında

hiçbir korelasyon bulunamazken, infarktüstten 10 gün sonraki arjinaz aktivitesi ile LDH arasında negatif bir korelasyon vardı ($r = -0.330$, $p<0.05$). Myokard infarktüsli hastalarda ayrıca, infarktüstten 24 saat sonra AST ile LDH ($r = 0.705$, $p<0.01$) ve AST ile CK-MB ($r = 0.488$, $p<0.01$) arasında, infarktüstten 48 saat sonra yine AST ile LDH ($r = 0.485$, $p<0.01$) ve AST ile CK-MB ($r = 0.455$, $p<0.01$) arasında, 10.günde ise AST ile LDH ($r = 0.383$, $p<0.05$) arasında pozitif bir korelasyon bulundu (Tablo 4).



Şekil 5. Myokard infarktüsli hastalarda infarktüstün 24 saat, 48 saat ve 10 gün sonra eritrosit arginaz ve serum AST, LDH, CK ve CK-MB aktivitesindeki değışim.

TARTIřMA

Arjinaz, karaciğerde amonyağın detoksifikasyonunu sağlayan üre siklusundaki son enzimdir. L-arjinindeki guanido grubunu hidrolitik olarak ayırarak molekülün üre ve ornitine dönüşümünü katalizler (1). Arjinazın memelilerde iki izoformu tanımlanmıştır (10,11). Arjinaz AI; başlıca memeli karaciğerinde bulunan ve üre siklusunda görevli enzimdir; ancak eritrositlerde ve mononükleer lökositlerde de aktivitesine rastlanır (12-14). AI'in sadece insanların ve bazı yüksek primatların eritrositlerinde eksprese edildiği bilinmektedir (13). Arjinaz AII ise karaciğer dışında birçok dokuda bulunan mitokondriyel bir enzimdir (10,11). Eritrositlerin nükleuslu prekürsörlerinin hem AI hem de AII izoformunu eksprese edebildikleri (24) ve eritrosit arjinazının maksimum aktivite için bir divalent katyona, tercihen Mn^{2+} 'ye ihtiyaç duyduğu ve optimum pH'sının 9.5 olduğu gösterilmiştir. Fetal ve erişkin eritrosit arjinaz enziminin Mn^{2+} iyonları yokluğunda, 68°C'de %40'ının

Tablo 3: Myokard infarktüsli hastalarda infarktüstün 24 saat, 48 saat ve 10 gün sonraki enzim aktivitesindeki artış katsayıları (1).

	Artış		
	24 Saat	48 Saat	10. Gün
Arginaz	1.33	1.17	1.00
AST	9.29	5.45	1.14
LDH	5.92	5.43	1.95
CK-MB	5.92	2.73	0.86

(1) Kontrol grubu değerlerinin katları olarak gösterilmiştir

Tablo 4: Myokard infarktüsli hastalarda ve kontrol grubunda enzim aktiviteleri arasındaki korelasyonlar.

	Myokard infarktüsü						Kontrol	
	24 Saat		48 Saat		10. Gün		r	p
	r	p	r	p	r	p		
Arjinaz/AST	-0.100	0.493	-0.136	0.350	-0.281	0.071	0.152	0.385
Arjinaz/LDH	0.039	0.788	-0.172	0.238	-0.330	<0.05	0.146	0.404
Arjinaz/CK-MB	-0.143	0.328	-0.207	0.167	-0.100	0.535	-0.143	0.413
AST/LDH	0.705	<0.01	0.485	<0.01	0.383	<0.05	-0.043	0.805
AST/CK-MB	0.488	<0.01	0.455	<0.01	0.177	0.274	-0.102	0.559
LDH/CK-MB	0.045	0.758	0.115	0.447	0.154	0.355	0.236	0.172

2 dakika içinde, Mn^{2+} iyonları varlığında ise $81^{\circ}C$ 'de 5 dakika ısıtmadan sonra %50'sinin denatüre olduğu bildirilmiştir (25).

Karaciğer dışı dokularda üre siklusunun diğer enzimleri bulunmadığından ekstrahepatik arjinazın başlıca glutamik asit, poliamin ve prolin sentezi ile ilişkili olabileceği ileri sürülmüştür (7,11). Arjinaz'ın substratı olan L-arjinin aynı zamanda damar regülasyonu ve immün modülasyon ile ilişkili olan nitrik oksit (NO) üretimi için NO sentaz'ın da substratıdır (26). Arjinazın spesifik şartlarda NO sentaz ile ortak substratları olan L-arjinin için yarışabildiğinin gösterilmesi son yıllarda arjinaza olan ilgiyi daha da artırmıştır (27). NO sentaz tarafından üretilen NO'nun damar regülasyonu ve immün modülasyon gibi önemli biyolojik etkilere sahip olduğu bilinmektedir (26).

Akut koroner yetmezlik, myokardın oksijen gereksinimini karşılamaya yetecek kan dolaşımına sahip olamaması ile ortaya çıkan bir durumdur. Myokard dokusunda bulunan birkaç enzim klinik olarak önem taşır çünkü bu enzimlerin kan dolaşımına saliverilmesi myokard hücre hasarı ve ölümü ile yakından ilişkilidir. Bunlar; kreatin kinaz, laktat dehidrojenaz, aspartat aminotransferaz ve aldolazdır (22). Myokard infarktüsülü hastaların serum arjinaz aktivitesinde de bir artış olduğu, bu artışın kalp kasındaki nekrotik bölgeden kaynaklanmış olabileceği ve serum arjinaz aktivitesinin ölçümünün infarktüsün teşhisinde önemli olabileceği bildirilmiştir (21,28). Bununla birlikte literatürde akut myokard infarktüsülü hastaların eritrosit arjinaz aktivitesinde bir değişim olup olmadığını inceleyen bir çalışmaya rastlayamadık.

Çalışmamızda myokard infarktüsülü hastaların infarktüstün 24 saat ve 48 saat sonraki eritrosit arjinaz aktivitesini hem kontrol grubuna göre hem de 10. güne göre daha yüksek bulduk. Ayrıca, infarktüstün 24 saat sonraki eritrosit arjinaz aktivitesi de 48 saat sonraki enzim aktivitesinden istatistiksel olarak daha yüksekti. İnfarktüstün 24 saat sonra arjinaz aktivitesini ölçtüğümüz 49 myokard infarktüsülü hastadan 36'sının arjinaz aktivitesi sağlıklı grubun arjinaz aktivitesi ortalaması olan 51.59 ± 10.78 U/gHb'den daha yüksekti. Diğer 13 hastanın arjinaz aktiviteyi ise 42.86 U/gHb ile 51.09 U/gHb arasında değişmekteydi. İnfarktüstün 48 saat sonra arjinaz aktivitesini ölçtüğümüz 49 myokard infarktüsülü hastadan 31'inin arjinaz aktivitesi sağlıklı grubun arjinaz aktivitesinden daha yüksekti. Diğer 18 hastanın arjinaz aktiviteyi ise 30.75 U/gHb ile 51.23 U/gHb arasında değişmekteydi. Bulgularımız akut myokard infarktüsünden 24 saat sonra eritrosit arjinaz aktivitesinde önemli bir artış olduğunu, 48 saatten sonra ise azaldığını ve 10. günde kontrol düzeylerine indiğini göstermektedir ve myokard infarktüsülü hastaların serum arjinaz aktivitesinde artış olduğunu bildiren çalışmalarını desteklemektedir (21,28).

Myokard infarktüsülü hastaların infarktüstün 24 saat ve 48 saat sonraki tüm kardiyak belirteç enzim aktiviteyi de hem kontrol grubuna göre hem de 10. güne göre daha yüksekti. AST ve CK-MB aktiviteyi infarktüstün 10 gün sonra normal düzeylerine inerken, LDH aktivitesindeki yükseklik devam etmekteydi. Ayrıca, infarktüstün 24 saat sonraki kardiyak belirteç enzim aktiviteyi de infarktüstün 48 saat sonrakine göre anlamlı olarak daha yüksek bulundu.

Myokard infarktüsünden sonra ilk yükselen enzim (4-6 saat içinde) CK-MB olup 12-24 saat içinde pik yapar, 24-48 saat sonra normal düzeylerine iner. AST aktivitesi 6-8 saat içinde artmaya başlar, 18-24 saatte pik yapar ve 4-5 günde normale döner. LDH aktivitesi ise infarktüstün 8-12 saat sonra yükselmeye başlar, 24-48 saat sonra maksimum düzeylerine ulaşır ve 7 gün veya daha uzun bir zamanda normal düzeylerine iner (22,29). Bu bilgilerden myokard infarktüsü sonrası en hızlı CK-MB'nin yükseldiği, ardından AST, en son da LDH'nin yükseldiği anlaşılmaktadır (29). Çalışmada AST ile LDH ve AST ile CK-MB arasında bulduğumuz pozitif korelasyonlar bu enzimlerin infarktüs sonrası myokardial hücre hasarına bağlı olarak dolaşıma birlikte saliverildiklerini göstermektedir. LDH ile CK-MB arasında korelasyon bulunmaması ise bu enzimlerin yükselme ve pik zamanlarının birbirinden uzak olmasından kaynaklanmış olabilir.

Çalışmamızda akut myokard infarktüsülü hastaların infarktüstün 24 saat, 48 saat ve 10 gün sonra serum kardiyak belirteç enzim aktiviteyi ve eritrosit arjinaz aktivitesinde gözlenen değişimler arasındaki benzerlik dikkat çekicidir. Serum arjinaz aktivitesindeki artışın, kardiyak belirteç enzim aktivitesinde olduğu gibi, hasara uğramış myokardial hücredeki enzimin dolaşıma saliverilmiş olmasından kaynaklanabileceğini söylemek mümkündür. Bununla birlikte myokardial hücre hasarının, eritrosit arjinaz aktivitesinde gözlenen artışı bu mekanizma ile başlatamayacağı açıktır.

Kontrol grubu değerlerini 100 olarak alıp, her bir enzim aktivitesindeki artışı kontrol grubu değerlerinin katları olarak hesapladığımızda infarktüstün 24 saat sonraki aktivite artışını arjinaz için 1.33 kat, AST için 9.29 kat, LDH için 5.92 kat ve CK-MB için 9.25 kat olarak bulduk. İnfarktüstün 48 saat sonraki artış ise, arjinaz için 1.17 kat, AST için 5.45 kat, LDH için 5.43 kat ve CK-MB için 2.73 kat olarak bulundu (Tablo 3). Bu sonuçlardan AST, LDH ve CK-MB aktiviteyiindeki artışın birbirine yakın değerlerde olduğu, oysa arjinaz aktivitesindeki artışın kardiyak marker enzimlerle karşılaştırıldığında çok daha az olduğu görülmektedir. Diğer taraftan, infarktüstün 24 saat, 48 saat ve 10 gün sonra eritrosit arjinaz ve serum kardiyak belirteç enzim aktiviteyi benzer değişimler gözlenmesine rağmen, myokard hasarının en yoğun olduğu ve hücre içeriklerinin en yoğun olarak dolaşıma saliverildiği günler olan infarktüstün 24 ve 48 saat sonra arjinaz aktivitesi ile kardiyak belirteç enzimleri arasında hiçbir pozitif korelasyona rastlanmadı.

Bu bulgular infarktüs sonrası eritrosit arjinaz aktivitesindeki artışın farklı bir mekanizma ile oluşabileceği düşüncesini desteklemektedir.

İnfarktüs sonrası eritrosit arjinaz aktivitesinde gözlenen artışı başlatan mekanizma hasara uğramış myokardial hücrede ortaya çıkan hipoksi ve/veya nöral stimülasyon gibi bazı metabolik değişikliklerle ilişkili olabilir. Arjinaz AI'in ekspresyonu ve aktivitesinin hipoksik ve anoksik koşullarda arttığı, AII'nin ise azaldığı gösterilmiştir (30,31). Aynı zamanda L-arjinin'in hücrelere girişinden sorumlu olan Na⁺ bağlı katyonik amino asit transporter proteini mCAT-2'nin hipoksi ile ekspresyonunun indüklendiği de gösterilmiştir (30). Başka bir çalışmada ise kronik kalp yetmezliğinde insan eritrositlerine L-arjinin taşınmasının arttığı, plazma L-arjinin konsantrasyonunun ise azaldığı bildirilmiştir (32). Arjinaz aktivitesinin optimal substrat konsantrasyonu, alkali pH ve Mn²⁺ iyonları varlığında maksimum olduğu bilinmektedir (12). İnfarktüs sonrası eritrositlere L-arjinin girişinin artması arjinaz aktivitesinde artışı başlatabilir.

Diğer yandan akut şiddetli myokardial iskeminin nöral stimülasyona, sol ventriküldeki depolardan katekolaminlerin salıverilmesine ve dolaşımdaki katekolaminlerin düzeylerinde artışa neden olduğu bildirilmiştir (33). Koroner arter tıkanması ile iskemik myokarda adrenerjik reseptör sayısının arttığı ve adenilat siklaz aktivasyonu ile birlikte cAMP konsantrasyonlarında bir artışın başladığı da gösterilmiştir (33). İnsan eritrosit membranının β_1 ve β_2 adrenerjik reseptör içerdiği (34) ve eritrositlerde β_2 'lerin asıl fonksiyonel β adrenerjik reseptörler olduğu bilinmektedir (35). cAMP'nin makrofajlarda arjinaz'ı güçlü biçimde indüklediği ve cAMP sentezinin katekolamin tarafından indüklenmiş arjinaz üretim mekanizmasının başlıca bileşeni olduğu ileri sürülmüştür (36). Dolayısıyla infarktüs sonrası eritrosit arjinaz aktivitesinde gözlenen artıştan myokardial iskemide ortaya çıkan nöral stimülasyon ve buna bağlı katekolamin salıverilişi de sorumlu olabilir.

Çalışmamızda infarktüsteden 48 saat sonraki eritrosit arjinaz aktivitesinde 24. saateğine göre anlamlı bir azalma vardı. İnfarktüsteden 10 gün sonra ise eritrosit arjinaz aktivitesi kontrol grubu değerlerine inmişti. İnfarktüsteden 48 saat sonra eritrosit arjinaz aktivitesinde gözlenen bu azalmadan L-arjinin'den NO üretimini sağlayan (37) nitrik oksid sentaz (NOS) enzimi sorumlu olabilir. Anok-

sik koşullarda NOS protein içeriğinde bir artış olduğu (31) ve NO'nun myokardial iskemiye karşı önemli bir koruma sağladığı bildirilmiştir (38). Bir başka çalışmada ise kromaffin hücrelerinin uyarılması sırasında üretilen NO'nun katekolamin sekresyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir (39). Arjinaz ile NOS'un L-arjinin için Km'leri arasında 1000 kat fark bulunmaktadır ve arjinaz konsantrasyona bağlı olarak L-arjinin'i kolayca kullanabilir (37). Ancak myokardial hücrede hipoksiye bağlı NOS enzim proteinindeki artış nedeniyle myokard infarktüstü hastalarda L-arjinin daha çok NO üretimi için kullanılabilir. NO üretimindeki artış ise katekolamin sekresyonunu inhibe ederek cAMP tarafından başlatılmış olan eritrosit arjinaz indüksiyonunu azaltabilir. NOS aktivitesindeki artışın arjinaz aktivitesini azalttığını bildiren çalışmalar mevcuttur (40,41). Arjinaz aktivitesinin infarktüsteden 48 saat sonra azaldığını ve 10 gün sonra kontrol düzeylerine indiğini gösteren bulgularımızın bu çalışmaları destekleyen önemli bulgular olduğuna inanıyoruz. Çalışmamızda infarktüstün 10.gününde eritrosit arjinaz ile serum LDH arasında bulduğumuz zayıf negatif korelasyon da LDH'ın hasarlı hücreden salıverilmesi devam ederken eritrosit arjinaz aktivitesinde artışa yol açan mekanizmanın (hipoksiye bağlı arjinaz indüksiyonu ve/veya nöral stimülasyona bağlı katekolamin sekresyonu) hücrede gittikçe etkisini kaybettiğini düşündürmektedir.

Bu çalışmada, akut myokard infarktüstü hastaların eritrosit arjinaz aktivitesinde (a) infarktüsteden 24 saat sonra önemli bir artış olduğu, (b) infarktüsteden 48 saat sonra kontrol grubuna göre yine yüksek olmakla birlikte ilk güne göre bir düşme olduğu ve (c) 10. günde ise kontrol seviyelerine indiği bulunmuştur. Akut myokard infarktüstü hastaların infarktüsteden 24 saat, 48 saat ve 10 gün sonra eritrosit arjinaz aktivitesinde gözlenen bu değişim özellikle serum AST ve CK-MB aktivitelerinde gözlenen değişime benzerlik göstermiştir. Arjinaz aktivitesinin kanser (42,43) ve laktasyon (44) gibi durumlarda da artması nedeniyle, arjinaz aktivitesindeki artışın ölçülmesinin myokard infarktüstü hastaların teşhisinde klinik olarak pek faydalı olamayacağı açıktır. Ancak, akut myokard infarktüstünden 24 saat, 48 saat ve 10 gün sonra eritrosit arjinaz aktivitesindeki değişimin izlenmesi myokard infarktüsü tanısı koymada faydalı olabilir.

Kaynaklar

- [1] Berueter J, Colombo JP, Bachmann C. Purification and properties of arginase from human liver and erythrocytes. *Biochem J* 1978;175: 449-54.
- [2] Scolnick LR, Kanyo ZF, Cavalli C, Ash DE, Christianson DW. Altering the binuclear manganese cluster of arginase diminishes thermo stability and catalytic function. *Biochemistry* 1997;36:10558-65.
- [3] Colombo JP, Konarska L. Arginase. In: Bergmeyer HU, editor. *Methods of enzymatic analysis*. Verlag Chemie: Basel Weinheim Dearfield Beach; 1984. p.285-94.
- [4] Straus, B, Borcic O. Inhibitory action of some amino acids on arginase from human liver, kidney, mammary gland and erythrocytes. *Acta Pharm Jugosl* 1976;26:149-53.
- [5] Redmond AF, Rothberg S. Arginase activity and other cellular events associated with epidermal hyperplasia. *J Cell Physiol* 1978;94:99-104.
- [6] Bernard AC, Fitzpatrick EA, Maley ME, Gellin GL, Tsuei BJ, Arden WA, Boulanger BR, Kearney PA, Ochoa JB. Beta adrenoceptor regulation of macrophage arginase activity. *Surgery* 2000;127 (4):412-8.
- [7] Morgan DML. Polyamines. *Essays Biochemistry* 1987;23:82-115.
- [8] Brittenden J, Heys SD, Ross J, Park KG, Eremin O. Nutritional pharmacology: effects of L-arginine on host defences, response to trauma and tumour growth. *Clin Sci (Lond)* 1994;86 (2):123-132.
- [9] Ochoa JB, Strange J, Kearney P, Gellin G, Edean E, Fitzpatrick E. Effects of L-arginine on the proliferation of T lymphocyte subpopulations. *JPEN J Parenter Enteral Nutr* 2001;25 (1):23-9.
- [10] Gotoh T, Araki M, Mori M. Chromosomal localisation of the human arginase II gene and tissue distribution of its mRNA. *Biochem Biophys Res Commun* 1997;233:487-91.
- [11] Carraway MS, Piantadosi CA, Jenkinson CP, Huang YC. Differential expression of arginase and iNOS in the lung in sepsis. *Exp Lung Res* 1998;24 (3):253-68.
- [12] Jenkinson CP, Grody WW, Cederbaum SD. Comparative properties of arginases. *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol* 1996;114 (1):107-32.
- [13] Spector EB, Rice SC, Kern RM, Hendrickson R, Cederbaum SD. Comparison of arginase activity in red blood cells of lower mammals, primates, and man: evolution to high activity in primates. *Am J Hum Genet* 1985;37 (6):1138-45.
- [14] Bernard AC, Mistry SK, Morris SM Jr, O'Brien WE, Tsuei BJ, Maley ME, Shirley LA, Kearney PA, Boulanger BR, Ochoa JB. Alterations in arginine metabolic enzymes in trauma. *Shock* 2001;15 (3):215-9.
- [15] Flamigni F, Rossoni C, Stefanelli C, Calderara CM. Polyamine metabolism and function in the heart. *J Mol Cell Cardiol* 1986;18 (1):3-11.
- [16] Pegg AE, Hibasami H. Polyamine metabolism during cardiac hypertrophy. *Am J Physiol* 1980;239 (5):E372-8.
- [17] Rona G. Catecholamine cardiotoxicity. *J Mol Cell Cardiol* 1985;17:291-306.
- [18] Grimm D, Elsner D, Schunkert H, et al. Development of heart failure following isoproterenol administration in the rat: role of the renin angiotensin system. *Cardiovasc Res* 1998;37:91- 100.
- [19] Tipnis UR, He GY, Li S, Campbell G, Boor PJ. Attenuation of isoproterenol-mediated myocardial injury in rat by an inhibitor of polyamine synthesis. *Cardiovasc Pathol* 2000;9 (5):273-80.
- [20] Koenig H, Goldstone AD, Trout JJ, Lu CY. Polyamines mediate uncontrolled calcium entry and cell damage in rat heart in the calcium paradox. *J Clin Invest* 1987;80 (5):1322-31.
- [21] Poremska Z, Kedra M. Early diagnosis of myocardial infarction by arginase activity determination. *Clin Chim Acta* 1975;60 (3):355-61.
- [22] Chapman, JF, Christenson RH, Silverman LM. Cardiac and muscle disease. In : Kaplan LA, Pesce AJ, editors. *Clinical Biochemistry*. 3rded. USA: Mosby;1996.p.593-612.
- [23] Geyer JW, Dabich D. Rapid method for determination of arginase activity in tissue homogenates. *Anal Biochem* 1971;39:412-7.
- [24] Kim PS, Iyer RK, Lu KV, Yu H, Karimi A, Kern RM, Tai DK, Cederbaum SD, Grody WW. Expression of the liver form of arginase in erythrocytes. *Mol Genet Metab* 2002;76 (2):100-10.
- [25] Spector EB, Kiernan M, Bernard B, Cederbaum SD. Properties of fetal and adult red blood cell arginase: a possible prenatal diagnostic test for arginase deficiency. *Am J Hum Genet* 1980;32 (1):79-87.
- [26] Parratt JR. Nitric oxide in sepsis and endotoxaemia. *J Antimicrob Chemother* 1998;41 Suppl A:31-9.
- [27] Chang CI, Liao JC, Kuo L. Arginase modulates nitric oxide production in activated macrophages. *Am J Physiol* 1998;274: H342-8.
- [28] Poremska Z, Kedra M. Occurrence of arginase in human blood serum in patients with myocardial infarction. *Bull Acad Pol Sci Biol* 1970;18 (3):137-40.
- [29] Moss DW, Henderson AR. Enzyme. In: Burtis CA, Ashwood ER, editors. *Tietz Textbook of Clinical Chemistry*. 2nd ed. USA: WB Saunders Company;1994.p.735-896.
- [30] Louis CA, Reichner JS, Henry WL Jr, Mastrofrancesco B, Gotoh T, Mori M, Albina JE. Distinct arginase isoforms expressed in primary and transformed macrophages: regulation by oxygen tension. *Am J Physiol* 1998;274 (3 Pt 2):R775-82.
- [31] Albina JE, Reichner JS. Oxygen and the regulation of gene expression in wounds.: *Wound Repair Regen* 2003;11 (6):445-51.
- [32] Hanssen H, Brunini TM, Conway M, Banning AP, Roberts NB, Mann GE, Ellory JC, Mendes Ribeiro AC. Increased L-arginine transport in human erythrocytes in chronic heart failure. *Clin Sci (Lond)* 1998;94 (1):43-8.
- [33] Thandroyen FT, Muntz KH, Buja LM, Willerson JT. Alterations in beta-adrenergic receptors, adenylate cyclase, and cyclic AMP concentrations during acute myocardial ischemia and reperfusion. *Circulation* 1990;82 (3 Suppl):II30-7.
- [34] Bree F, Gault I, d'Athis P, Tillement JP. Beta adrenoceptors of human red blood cells, determination of their subtypes. *Biochem Pharmacol* 1984;33 (24):4045-50.
- [35] Horga JF, Gisbert J, De Agustin JC, Hernandez M, Zapater P. A beta-2-adrenergic receptor activates adenylate cyclase in human erythrocyte membranes at physiological calcium plasma concentrations. *Blood Cells Mol Dis* 2000;26 (3):223-8.
- [36] Morris SM Jr, Kepka-Lenhart D, Chen LC. Differential regulation of arginases and inducible nitric oxide synthase in murine macrophage cells. *Am J Physiol* 1998;275 (5 Pt 1):E740-7.
- [37] Wu G, Morris SM Jr. Arginine metabolism: nitric oxide and beyond. *Biochem J* 1998;336 (Pt 1):1-17.
- [38] Jones SP, Bolli R. The ubiquitous role of nitric oxide in cardioprotection. *J Mol Cell Cardiol* 2006;40 (1):16-23.

- [39] Nagayama T, Hosokawa A, Yoshida M, Suzuki-Kusaba M, Hisa H, Kimura T, Satoh S. Role of nitric oxide in adrenal catecholamine secretion in anesthetized dogs. *Am J Physiol* 1998;275 (4 Pt 2):R1075-81.
- [40] Fligger J, Blum J, Jungi TW. Induction of intracellular arginase activity does not diminish the capacity of macrophages to produce nitric oxide in vitro. *Immunobiology* 1999;200 (2):169-86.
- [41] Hecker M, Nematollahi H, Hey C, Busse R, Racke K. Inhibition of arginase by NG-hydroxy-L-arginine in alveolar macrophages: implications for the utilization of L-arginine for nitric oxide synthesis. *FEBS Lett* 1995;359 (2-3):251-4.
- [42] Süer Gökmen S, Yörük Y, Çakır E, Yorulmaz F & Gülen Ş. Arginase and ornithine, as markers in human non-small cell lung carcinoma. *Cancer Biochemistry Biophysics* 1999;17:125-31.
- [43] Porembaska Z, Luboinski G, Chrzanowska A, Mielczarek M, Magnuska J & Baranczyk-Kuzma A. Arginase in patients with breast cancer. *Clinica Chimica Acta* 2003;328:105-11.
- [44] Yip MC, Knox WE. Function of arginase in lactating mammary gland. *Biochemical Journal* 1972;127:893-9.